

IV. Aus der medicinischen Klinik in Heidelberg.

Ueber die Färbung des Tuberkelbacillus.

Von

Dr. Franz Ziehl, Assistenzarzt.

In der No. 11 der Deutschen medicinischen Wochenschrift findet sich ein Bericht über eine Sitzung des Vereins für innere Medicin in Berlin vom 5. März d. J. In derselben hatte Ehrlich ein Referat über einige den Tuberkelbacillus betreffende Fragen übernommen. Er kommt dabei auch auf die Färbung desselben zu sprechen, resp. auf seine Theorie derselben. Aus dem Bericht geht hervor, dass Ehrlich noch immer an derselben festhält, trotzdem sie doch meines Erachtens zur Genüge von verschiedenen Seiten widerlegt ist und zwar durch Versuche, die so einfach und leicht anzustellen sind, dass jeder, der überhaupt weiss, wie derartige Versuche angestellt werden müssen und der sich für die Sache interessirt, sich leicht von deren Richtigkeit überzeugen kann²⁾.

¹⁾ Virchow's Archiv, April 1873.

²⁾ Die Redaction erlaubt sich hierzu die Mittheilung, dass sich Herr Prof. Ehrlich eine abschliessende Entgegnung auf diesen ihm bekannt gegebenen Artikel für eine der nächsten Nummern vorbehalten hat.

Aus seiner Theorie hatte Ehrlich auch Rückschlüsse für die Praxis abgeleitet¹⁾, indem dieselbe nach ihm Licht auf die Desinfectionsfrage werfen sollte; er meint, alle Desinfectionsmittel, die eine saure Beschaffenheit hätten, dürften ohne Einwirkung sein, offenbar müsse man auf alkalische Desinfectionsmittel recurriren.

Nur die practische Ausführung dieser Theorie war es, wenn uns im vorigen Sommer ein auswärtiger College erzählte, in seiner Heimath fange man bereits an, auf Grund der Ehrlich'schen Untersuchung, Phthisiker in alkalische Desinfectionsmittel ausspucken zu lassen.

Ja selbst für die Therapie ist die Ehrlich'sche Theorie bereits verwandt worden. In der Berl. klin. Wochenschrift No. 4 d. J. findet man einen Bericht über eine Sitzung der Berl. med. Gesellschaft vom 1. November 1882. Dasselbst sagte B. Fränkel Folgendes: „Nun sieht es so aus, als ob die chemische Reaction, alkalisch oder sauer, einen Einfluss auf die Bacillen hätte. Herr Guttman hat uns Präparate gezeigt, die mit Carbolsäure gefärbt sind. Auch die von Herrn Ehrlich angegebene Flüssigkeit, die Anilinlösung, ist so wenig alkalisch, nähert sich vielmehr so sehr dem neutralen, dass in dieser Beziehung eigentlich von der Wirkung der Alkalien kaum gesprochen werden kann. Es bleibt aber immer übrig, dass die Säure alles andere entfärbt, nur nicht den Tuberkelbacillus und so liegt es wohl nahe, an irgend einen Zusammenhang zwischen Säure und Alkali und Tuberculose zu denken. Da kam ich nun auf den Gedanken, das Ammoniak zu versuchen und den Patienten Inhalationen von Ammoniak zu verordnen.“

Ein solcher, an Larynxphthise leidender Kranker wurde dann in eine Orseille-Fabrik, in der reichlich Ammoniak verdunstete, geschickt und musste sich in derselben täglich 7 Stunden aufhalten. Ein Erfolg wurde nicht erzielt. Ein Erfolg war aber auch theoretisch nicht zu erwarten, weil der ganze Gedankengang, auf den die Therapie beruht, von der an sich unrichtigen Theorie Ehrlich's abgeleitet war.

Wie man sieht, hat die Ehrlich'sche Theorie schon ganz bedenkliche Früchte getragen und zum Theil deshalb bringen wir die Sache hier nochmals zur Sprache; denn da Ehrlich an seiner Theorie festhält, so wäre es nicht unmöglich, dass noch Andere prophylaktische oder gar therapeutische Consequenzen daraus zu ziehen sich bemühten und mit den unglücklichen Phthisikern noch allerlei Versuche anstellte, die ganz unnöthig sind, da die Ehrlich'sche Theorie den Thatsachen nicht entspricht.

Wie bekannt, beruht nach Ehrlich das Wesen und das Eigenthümliche der Färbbarkeit der Tuberkelbacillen darauf, dass denselben eine Hülle zukomme, die für Farbstoffe nur unter dem Einfluss von Alkalien durchgängig und zweitens darauf, dass diese Hülle unter dem Einfluss von Säuren ganz undurchgängig ist.

Den ersten Theil dieser Theorie haben wir bereits in der No. 33 d. Zeitschrift v. J. widerlegt, indem wir zeigten:

1) dass die Färbefähigkeit, die wir nach der Ehrlich'schen Vorschrift darstellten und mit der uns die Färbung immer gelungen ist, gar nicht alkalisch reagirte, eher etwas sauer,

2) dass dieselbe Flüssigkeit noch färbte, als sie künstlich sauer gemacht war,

3) dass die Färbung auch gelingt, wenn man das Anilinöl durch andere Stoffe ersetzt, die nicht alkalisch reagieren,

4) haben Lichtheim und de Giacomini gezeigt²⁾, dass die Tuberkelbacillen auch in einfacher concentrirter wässriger Lösung von Fuchsin und Gentrin violett sich färben, dass in der Wärme die Färbung momentan eintritt. Hiergegen hat zwar Friedländer³⁾ bemerkt, dass ihm dies nicht recht gelungen sei, er macht jedoch gleich darauf aufmerksam, dass diese Differenz durch eine Verschiedenheit der benutzten Farbstoffe bedingt sein müsse. Diese Erklärung ist unzweifelhaft richtig. Wir haben mit zwei Sorten von Fuchsin aus verschiedener Bezugsquelle Versuche angestellt. Mit einer rein wässrigen Lösung der einen Sorte erzielten wir keine Färbung, in einer concentrirten wässrigen Lösung der zweiten Sorte⁴⁾ dagegen färbten sich einzelne Bacillen bereits nach einer halben Stunde. Mit der Dauer der Einwirkung nimmt die Zahl der gefärbten Bacillen zu. In der Wärme trat die Färbung sofort ein.

Nach diesen Beobachtungsthaten ist der erste Theil der Ehrlich'schen Theorie unhaltbar. Ob Ehrlich an diesem Theil noch festhält, ist aus dem erwähnten Referat nicht ersichtbar, weil er ganz darüber schweigt.

Für die Koch'sche Angabe, dass ihm die Färbung mit dem Methylenblau nur gelungen sei, wenn er seine Lösung alkalisch gemacht habe, folgt daraus, dass es eben nicht die Eigenschaft der Alcalescenz war, auf die es ankam, sondern eine andere unbekannte Eigenschaft des Kalis, die bei dem Vorgang der Färbung eine ähnliche Rolle spielen muss,

wie sie auch einige andere Körper und die Wärme übernehmen können, eine Eigenschaft, die zuweilen das Fuchsin an sich schon haben muss.

Den zweiten Theil der Ehrlich'schen Theorie haben wir in der No. 5 dieser Zeitschrift zu widerlegen versucht. Wir brachten ein ganz genau nach der Ehrlich'schen Methode gefärbtes und durch Salpetersäure wieder entfärbtes Präparat in einem Tropfen Wasser unter das Mikroskop, stellten eine Gruppe lebhaft roth gefärbter Tuberkelbacillen ein, entfernten das Wasser durch Fliesspapier, indem wir gleichzeitig von der anderen Seite verdünnte Salpetersäure nachfließen liessen und so das Präparat einem Strom verdünnter, beständig sich erneuernder Salpetersäure aussetzten. Wir beobachteten dann, dass die Tuberkelbacillen binnen einigen Minuten unter unseren Augen anfangen sich zu entfärben, dass bei Ersatz der Salpetersäure durch Wasser die rothe Farbe wieder zum Vorschein kam u. s. w., das Genauere s. l. c. Daraus geht mit absoluter Sicherheit hervor, dass die Salpetersäure im Stande ist, in die Bacillen einzudringen; demnach ist auch der zweite Theil der Ehrlich'schen Theorie nicht den Thatsachen entsprechend.

Wir gaben ferner l. c. an, dass durch salpetrige Säure der Tuberkelbacillus seine Farbe verliere, die demnach doch wohl trotz der Ehrlich'schen Theorie in den Tuberkelbacillus eingedrungen sein muss. Wir schlossen daran die Bemerkung, dass man sich also zum Entfärben der Präparate einer durchaus reinen Salpetersäure bedienen müsse.

Von der Richtigkeit dieser letzten Beobachtung scheint auch Ehrlich sich überzeugt zu haben; denn im Verlauf der Discussion l. c. bemerkt er, dass salpetrige Säure im Stande sei, in den Bacillus hineinzufundiren und dass, wenn man sich nicht gegen diese sichere, die Möglichkeit, ja die Wahrscheinlichkeit gegeben sei, dass ein Theil der vorhandenen Bacillen verloren gehe.

Hätte Ehrlich unseren anderen Versuch nachgemacht, so würde er sich auch leicht von der Richtigkeit dieses Versuches haben überzeugen können. Statt dessen führt er für seine Annahme einen Entfärbungsversuch mit schwefligsaurem Natron an. Dasselbe soll selbst nach eintägiger Einwirkung nicht im Stande sein, in den Tuberkelbacillus einzudringen. Ob dies richtig ist, wissen wir nicht, wir haben bisher keine Veranlassung gehabt, darüber Versuche anzustellen; denn bisher hat es sich darum überhaupt noch nicht gehandelt, welche Körper in den Bacillus einzudringen vermöchten und welche nicht, sondern einzig und allein um die Angabe Ehrlich's, dass starke Mineralsäuren in denselben nicht einzudringen vermöchten, speciell um die Angabe, dass für die Zeit von einer Stunde die Salpetersäure auf die Färbung selbst ohne Einfluss sei, und nur diese Angabe haben wir auf Grund des obigen Versuches bestritten und widerlegt. Ob es sonst Körper giebt, die in denselben nicht eindringen können, wissen wir nicht, weil wir nie darüber Versuche angestellt haben, und wir werden uns wohl hüten, nach Versuchen mit einem einzigen Körper darüber gleich allgemeine Theorien aufzustellen.

An und für sich ist es ja gewiss denkbar, dass es Körper giebt, die nicht in denselben einzudringen vermögen. Wie aber die Angabe Ehrlich's, dass das schwefligsaure Natron nicht in denselben einzudringen vermag, eine Stütze für seine Angabe sein soll, dass auch Mineralsäuren nicht eindringen könnten, das können wir nun allerdings ganz und gar nicht einsehen, und das ist das einzige Moment, das er gegen unsere Angabe in jener Sitzung vorgebracht hat. Mit einem Schluss nach der Analogie kann man doch nicht Angaben widerlegen wollen, die auf Beobachtung beruhen, und wir müssen deshalb den Versuch Ehrlich's, unsere Angaben d. h. unsere wirklichen Angaben, nicht die von Ehrlich supponirten zu entkräften, als verfehlt ansehen. Derselbe hat bisher nicht einen einzigen unter den Einwänden widerlegt, die seiner Theorie gemacht worden sind¹⁾.

Demnach liegt die Sache so, dass die Tuberkelbacillen durch Salpetersäure ebenfalls entfärbt werden, und nur in der Zeit, die dazu nöthig ist, liegt die Differenz zwischen ihnen und anderen Spaltpilzen. In erwärmter Salpetersäure ist die Entfärbung eine momentane. Demnach besteht in dem Vorgang der Färbung und Entfärbung eine vollständige Analogie. Langsam erfolgt beides in der Kälte, beides nicht an allen Bacillen mit der gleichen Geschwindigkeit sondern an dem einen rascher, an dem anderen langsamer; beides tritt beim Erwärmen momentan ein. Je länger die Farbstofflösung einwirkt, desto intensiver ist die Färbung, desto länger dauert aber auch die Entfärbung.

Es ist ganz selbstverständlich, dass, wenn so die fundamentale Differenz in der Färbung zwischen Tuberkelbacillen und anderen Spaltpilzen verschwindet, damit im Uebrigen an der Lehre von den Tuberkelbacillen auch nicht im mindesten etwas geändert wird, und die Erfahrung hat bereits entschieden, dass auch zum Nachweis der Tuberkel-

¹⁾ Frerichs und Leyden, Zeitschrift für klin. Medicin, Bd. V, p. 307.

²⁾ Fortschritte der Medicin, Bd. I No. 1 u. 5.

³⁾ Fortschritte der Medicin, Bd. I No. 5.

⁴⁾ Dasselbe war von Grüber aus Leipzig bezogen.

bacillen das Ehrlich'sche Verfahren vollkommen ausreicht. Nur wenn man keine Tuberkelbacillen mit der Methode findet, hat man sich zu fragen, ob nicht eine der jetzt bekannten Fehlerquellen vorliegt (zu langes Verweilen in Salpetersäure, Gegenwart salpetriger Säure). Die Erkenntnis der Fehlerquellen, die bei einer Methode vorkommen können, gereichen derselben, wie uns scheint, nur zum Vortheil.

Wir können uns auch nicht ganz der Ansicht Koch's¹⁾ anschließen, dass diese Fragen ganz nebensächliche seien, nebensächlich sind sie gewiss für die Frage nach der parasitären Natur der Tuberculose, für den klinisch-diagnostischen Standpunkt sind sie aber grade die Hauptsache; denn die Erfahrung hat bereits entschieden, dass dem Nachweis der Tuberkelbacillen eine diagnostische Bedeutung zukommt, die ganz unabhängig ist von der Koch'schen Theorie der Tuberculose, eine Bedeutung, die denselben selbst dann noch bleiben würde, wenn die Koch'sche Theorie widerlegt werden sollte. Weil aber die klinisch-diagnostische Bedeutung der Tuberkelbacillen einzig und allein auf der Farbenreaction beruht, so müssen auch die möglichen Fehlerquellen derselben genau so eingehend untersucht werden, wie alle übrigen diagnostischen Methoden auf ihre Fehlerquellen untersucht werden; denn nur wenn diese bekannt sind, hat man ein Urtheil darüber, wie sicher ein auf den gelungenen Nachweis oder nicht gelungenen Nachweis der Tuberkelbacillen gebauter diagnostischer Schluss ist. Dazu gehört wohl auch eine richtige Vorstellung von dem Vorgang der Färbung und der nachfolgenden Entfärbung; denn die Vorstellung Ehrlich's, dass die Salpetersäure ohne Einfluss auf die Färbung sei, kann dadurch zu falschen Resultaten führen, dass jemand die Salpetersäure zu lange auf das Präparat einwirken lässt. Wir wollen nicht unterlassen, dabei ausdrücklich hervorzuheben, dass Ehrlich selbst neuerdings angiebt, man solle die Behandlung mit Salpetersäure so kurze Zeit wie möglich dauern lassen.

Wir wissen sehr wohl, dass sich den unsrigen ganz ähnliche Versuche in dem Buche Spina's „Studien über Tuberculose“ finden. Besonders ist dort ebenso der Entfärbungsversuch mit Salpetersäure bei directer Beobachtung durch das Mikroskop angegeben. Dass wir dennoch nicht diese Versuche zur Stütze unserer Ansicht gegen die Ehrlich's herangezogen haben, geschah deshalb, weil wir die Versuchsanordnung Spina's für nicht sicher beweisend halten. Derselbe bringt das Präparat vor der Entfärbung unter das Mikroskop und stellt in dem gefärbten Präparat eine gefärbte Bacillengruppe ein. Es ist dann immer der Zweifel zulässig, ob dies auch wirklich Tuberkelbacillen gewesen sind. Bei unserer Versuchsanordnung ist diese Fehlerquelle umgangen²⁾.

Uebrigens lässt sich die Entfärbung bei directer Beobachtung unter dem Mikroskop mit vollkommener Sicherheit vornehmen. Da jedoch über die Art der Ausführung eines solchen Versuches zum Theil höchst sonderbare Vorstellungen zu herrschen scheinen — man sehe nur den oben erwähnten Sitzungsbericht genauer darauf an — können wir nicht umhin, hier etwas genauer auf die Ausführung desselben einzugehen.

Es sollte fast als selbstverständlich erscheinen, dass man dazu nicht das ganze ungefärbte Deckglaspräparat direct auf den Objectträger legen darf und nun vom Rande her etwas Salpetersäure zutreten lässt. Wer einen solchen Versuch sich in dieser Weise vorstellt oder gar macht, der beweist damit nur einen bedauerlichen Mangel an mikroskopischer Technik. Man muss dazu die ganze gefärbte Sputumschicht vom Deckglas entfernen bis auf einen einzigen Ueberrest, der kaum die Grösse eines Stecknadelkopfes zu haben braucht, wenn man sich eines mit Bacillen reichlich durchsetzten Sputums bedient; ferner muss man das Deckglas nicht unmittelbar auf den Objectträger legen, sondern durch eingeschobene Glassplitter (etwa von zerbrochenen Deckgläsern) einen Hohlraum zwischen Objectträger und Deckglas herstellen. Legt man nun an die eine Seite des zur Vermeidung einer Verschiebung festgekitteten Deckglases einen Bausch Fliesspapier, oder stellt man das Mikroskop schief, so kann man das winzige Präparat in ganz kurzer Zeit mit einem überreichlichen Strom sich beständig erneuernder Salpetersäure in Berührung bringen. Wenn man mit fehlerhaften Methoden fehlerhafte Resultate erzielt, so ist das freilich nicht wunderbar, es können dadurch aber nicht die richtigen Beobachtungen Anderer widerlegt werden. Die Kenntniss der Technik scheint uns das erste Erforderniss zu sein, wenn man Entfärbungsversuche bei directer Beobachtung unter dem Mikroskop anstellen will. Im Uebrigen entscheiden in der Naturwissenschaft lediglich die Beobachtung und das Experiment über die Richtigkeit oder Unrichtigkeit einer Theorie, und die Ehrlich'sche Annahme findet dadurch keine Stütze³⁾.

¹⁾ Diese Zeitschrift No. 11 d. J.

²⁾ Spina's Methode, sich gegen diese Fehlerquelle zu sichern, ist wohl nicht absolut beweiskräftig.

³⁾ Während der Correctur erschien noch eine Arbeit von Finkler und Eichler im Centralblatt für klinische Medicin. Die Angaben derselben stimmen mit den unsrigen ganz überein.